

การใช้ผลพลอยได้จากข้าวทดแทนมันฝรั่งในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* และ *Fusarium oxysporum*

Utilization of rice by-products as substitutes for potatoes in culture media for the cultivation of *Fusarium fujikuroi* and *Fusarium oxysporum*

เจนจิรา นามิ^{1*} และ ปณัท สุขสร้อย¹
Janejira Namee^{1*} and Panut Sooksoi¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้ผลพลอยได้จากข้าว ได้แก่ รำข้าว ฟางข้าว และแกลบ ทดแทนมันฝรั่งในสูตรอาหาร potato dextrose agar (PDA) ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อรา 5 สูตร ได้แก่ สูตรอาหาร (potato dextrose agar, PDA), สูตรอาหารฟางข้าว (rice straw agar, RSA), สูตรอาหารแกลบ (rice husk agar, RHA), สูตรอาหารรำข้าว (rice bran agar, RBA) และสูตรอาหาร (water agar, WA) โดยทำการศึกษาการเจริญของเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* และ *Fusarium oxysporum* จากผลการทดลองพบว่า *F. fujikuroi* เจริญได้ดีที่สุดในสูตรอาหาร RSA คือมีความยาวของเส้นใยเฉลี่ย 74.75 มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหาร PDA ($p < 0.05$) ในขณะที่เชื้อรา *F. oxysporum* เจริญได้ดีที่สุดในสูตรอาหาร RHA คือมีความยาวของเส้นใยเฉลี่ย 78.50 มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเทียบกับสูตรอาหาร PDA ($p < 0.05$) ด้านจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* พบว่าสูตรอาหาร RBA ให้จำนวนสปอร์ของเชื้อรามากที่สุด ($p < 0.05$) มีค่าเฉลี่ย 1.40×10^8 และ 6.30×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ารำข้าว ฟางข้าว และแกลบสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทดแทนมันฝรั่งในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* ในห้องปฏิบัติการได้

คำสำคัญ: ผลพลอยได้จากข้าว ฟางข้าว รำข้าว แกลบ อาหารเลี้ยงเชื้อ

Abstract

This research aimed to investigate the utilization of rice by-products, namely rice bran, rice straw, and rice husk, as substitutes for potatoes in potato dextrose agar (PDA) media in the laboratory. Five different culture media formulations were prepared: potato dextrose agar (PDA), rice straw agar (RSA), rice husk agar (RHA), rice bran agar (RBA), and water agar (WA). The study evaluated the mycelial growth and spore production of the fungal strains *Fusarium fujikuroi* and *Fusarium oxysporum*. The experimental results revealed that *F. fujikuroi* exhibited optimal growth on the RSA medium, with an average mycelial length of 74.75 mm, which was not statistically significantly

¹ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

¹ Faculty of Agricultural Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage Pathum Thani Province

* Corresponding author. E-mail: Janejira.na@vru.ac.th

different from the PDA medium ($p < 0.05$). Conversely, *F. oxysporum* exhibited the best growth on the RHA medium, with an average mycelial length of 78.50 mm, which was not statistically significantly different from the PDA medium ($p < 0.05$). Regarding spore production, the RBA medium yielded the highest number of spores for both *F. fujikuroi* and *F. oxysporum* ($p < 0.05$), with average counts of 1.40×10^8 and 6.30×10^6 spores/ml, respectively. The findings demonstrate that rice bran, rice straw, and rice husk can be effectively utilized as substitutes for potatoes in culture media for the laboratory cultivation of *F. fujikuroi* and *F. oxysporum*.

Keywords: rice by-product, rice bran, rice straw, rice husk, culture media

บทนำ

โดยทั่วไปห้องปฏิบัติการจะใช้สูตรอาหาร potato dextrose agar (PDA) และสูตรอาหาร water agar (WA) ในการเพาะเลี้ยงเชื้อราสำหรับการเรียนการสอน และการทำงานวิจัย ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อราสำเร็จรูปเหล่านี้มีคุณภาพ และได้มาตรฐานสำหรับการใช้ในห้องปฏิบัติการ แต่มีราคาแพง โดยการเรียนรู้การสอนจะศึกษาในส่วนของโครงสร้างของเชื้อราเป็นหลัก ไม่ได้เน้นการศึกษาสมบัติทางชีวภาพหรือสมบัติทางเคมีเหมือนแบคทีเรีย ไม่จำเป็นต้องใช้สารที่เป็นส่วนประกอบของอาหารที่มีโครงสร้างและส่วนประกอบทางเคมีที่ชัดเจน (Samerpitak, Kongthaworn, Trakarathai, & Chaicumpar, 2007) และเพื่อเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการเรียนการสอน จึงได้มีการนำวัสดุที่มีอยู่ในท้องถิ่นมาใช้ทดแทนอาหารเลี้ยงเชื้อราสำเร็จรูป สำหรับพื้นที่จังหวัดสระแก้วมีการทำการเกษตรโดยทำนาเป็นส่วนใหญ่ ภายหลังจากการทำนาจะมีเศษเหลือทางการเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว แกลบ และรำข้าว ซึ่งเป็นวัสดุชีวภาพเศษเหลือทางการเกษตรที่มีมูลค่าต่ำ แต่อย่างไรก็ตาม วัสดุเศษเหลือทางการเกษตรเหล่านี้ถูกนำไปด้วยสารอาหาร หาง่ายในท้องถิ่น เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ผู้ย่อยสลาย (decomposer) ทำให้เชื้อราสามารถใช้แหล่งวัตถุดิบในธรรมชาติ (วัสดุชีวภาพ) มาเป็นแหล่งอาหารได้ เช่น ข้าว มันฝรั่ง มันสำปะหลัง

ข้าวโพด รวมทั้งผลพลอยได้จากวัตถุดิบทางการเกษตร เชื้อราก็สามารถใช้ในการเจริญสร้างเส้นใยและสร้างสปอร์ได้ดี (Nonaka, Todaka, Omura, & Masuma, 2014) จากการศึกษาของ Maneenil, & Pengnoo (2022) พบว่าอาหาร PDA ที่เสริมรำข้าวและเสริมปลายข้าวทำให้เชื้อ *Bacillus subtilis* เจริญเติบโตได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร PDA เพียงอย่างเดียว จะเห็นได้ว่ารำข้าวและปลายข้าวเป็นผลพลอยได้หรือวัสดุชีวภาพเศษเหลือจากกระบวนการสีข้าว และมีรายงานว่ามืองค์ประกอบทางเคมีที่จุลินทรีย์ต้องการในการเจริญ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน น้ำหรือความชื้น และเส้นใยอาหารต่าง ๆ จากงานวิจัยพบว่ารำข้าวประกอบด้วยเยื่อใยอาหารเป็นส่วนใหญ่ 20.50-33.30 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 13.20-18.60 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 9.5-22.9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนฟางข้าวและแกลบทั่วไปจะมีโปรตีนประมาณ 3-4 เปอร์เซ็นต์ มีไขมันและเยื่อใยต่ำ (Liu, Zhang, Yi, Quan, & Lin, 2021) ในการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกใช้เชื้อราในกลุ่ม *Fusarium* sp. เป็นเชื้อราที่จัดอยู่ใน subdivision Deuteromycotina, class Hyphomycetes, order Tuberculariales และ family Tuberculariaceae *Fusarium* เป็นเชื้อราที่สำคัญและทำความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจได้กว้างขวาง โดยเฉพาะในข้าวเป็นสาเหตุของโรคถดถั่วฝักยาว (bakanae disease) และโรคเมล็ดด่าง ซึ่งเกิดจากเชื้อรา

ในกลุ่ม *Fusarium* ได้หลายชนิด เช่น เชื้อรา *Fusarium fujikuroi* และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (Desjardins et al., 2000) พบการแพร่ระบาดได้ทุกพื้นที่ของการปลูกข้าวมีการรายงานว่าโรคอดผักดาบ ทำให้ผลผลิตข้าวลดลง 3-94 เปอร์เซ็นต์ (Gupta, Solanki, Bashyal, Singh, & Srivastava, 2015) ในประเทศไทยพบเชื้อราในกลุ่มนี้มากในนาข้าวพื้นที่ภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเชื้อราสาเหตุโรคอดผักดาบสามารถติดไปกับเมล็ดหรือปนเปื้อนภายในดินก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตข้าวอย่างต่อเนื่อง (Wongcharoen, 2014)

ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงเลือกวัสดุชีวภาพเศษเหลือจากข้าว คือ รำข้าว ฟางข้าว และแกลบมาเป็นวัตถุดิบธรรมชาติทดแทนมันฝรั่งในการทำอาหารเลี้ยงเชื้อรา เนื่องจากในรำข้าว ฟางข้าว และแกลบมีสารอาหารที่คาดว่าจะนำมาทดแทนมันฝรั่งได้ นอกจากนี้ยังพบว่ารำข้าว ฟางข้าว และแกลบสามารถหาได้ง่ายและราคาถูกกว่ามันฝรั่ง งานวิจัยนี้เลือกใช้เชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* มาทดสอบกับอาหารเลี้ยงเชื้อราที่พัฒนาสูตรอาหารจากรำข้าว ฟางข้าว และแกลบเพื่อศึกษาการเจริญของเส้นใยและการสร้างจำนวนสปอร์ของเชื้อรา เนื่องจากเชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* เป็นเชื้อราที่ใช้ในการเรียนการสอน และการวิจัยในห้องปฏิบัติการของสาขาวิชาเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดสระแก้ว จึงน่าจะมีความเป็นไปได้ว่าเมื่อนำเชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอาหารรำข้าว ฟางข้าว และแกลบ เชื้อราจะใช้สารอาหารจากรำข้าว ฟางข้าว และแกลบในการเจริญ และสร้างสปอร์ได้

และคาดว่าจะเส้นทางเลือกที่จะช่วยลดค่าใช้จ่ายในการซื้อ มันฝรั่งหรืออาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปสูตรอาหาร PDA เพื่อลดต้นทุนวัสดุฝึกในการเรียนการสอน การทำวิจัยในห้องปฏิบัติการ และยังเป็นการใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวภาพเศษเหลือจากการเกษตรอีกด้วย

วิธีการศึกษา

1. การเตรียมสูตรอาหาร PDA, WA, RBA, RSA และ RHA

วิธีการเตรียมสูตรอาหาร PDA, WA, RBA, RSA และ RHA ตามวิธีการของ Uthayasooriyan, Pathmanathan, Ravimannan, & Sathyaruban (2016) โดยมีส่วนประกอบดัง (Table 1) ตามสูตรอาหารดังนี้ สูตรอาหาร PDA ประกอบด้วย มันฝรั่ง 200 กรัม ผงวุ้น (Himedia ประเทศอินเดีย) 20 กรัม น้ำตาลซูโครส (KemAus ประเทศออสเตรเลีย) 20 กรัม และน้ำกลั่น 1 ลิตร ปอกเปลือกมันฝรั่งล้างน้ำเปล่าให้สะอาดแล้วนำมาต้มประมาณ 20 นาที กรองผ่านตะแกรงเอาเฉพาะน้ำ เดิมส่วนผสมอื่น ๆ ลงไปให้ครบ คนให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มให้วุ้นละลายเข้ากัน ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) (Anapure ประเทศนิวซีแลนด์) ความเข้มข้น 37 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 4.50 กรอกใส่ขวดทนความร้อนขนาด 500 มิลลิลิตร นำขวดอาหารมานึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) (Sturdy รุ่น SA-300VF ประเทศไต้หวัน) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบตามกำหนดเวลานำอาหารเลี้ยงเชื้อออกทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อรอเชื้อรา ส่วนของรำข้าว ฟางข้าว และแกลบ ได้มาจากแปลงนาของเกษตรกร ตำบลท่าเกษม อำเภอเมืองสระแก้ว

จังหวัดสระแก้ว ขั้นตอนการทำอาหารเลี้ยงเชื้ออาหารทำเช่นเดียวกับสูตรอาหาร PDA โดยฟางข้าว และแกลบที่ได้มาล้างทำความสะอาดฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย Clorox

ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นและวางผึ่งให้แห้ง ในส่วนของฟางข้าวให้หั่นเป็นท่อนขนาด 1 เซนติเมตร ก่อนนำไปทำอาหารเลี้ยงเชื้อ

Table 1 Compositions of experimental fungal culture media.

culture media		composition		
PDA ^{1/}	potato 200 g	agar powder 20 g	sucrose 20 g	distilled water 1 L
RSA ^{1/}	rice straw 200 g	agar powder 20 g	sucrose 20 g	distilled water 1 L
RHA ^{1/}	rice husk 200 g	agar powder 20 g	sucrose 20 g	distilled water 1 L
RBA ^{1/}	rice bran 200 g	agar powder 20 g	sucrose 20 g	distilled water 1 L
WA ^{1/}	-	agar powder 20 g	sucrose 20 g	distilled water 1 L

^{1/}PDA=potato dextrose agar, RSA=rice straw agar, RHA=rice husk agar, RBA=rice bran agar, WA=water agar.

2. การเตรียมเชื้อรา

เชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* ได้รับจากศูนย์วิจัยข้าวปรางจินบุรี จังหวัดปรางจินบุรี ในรูปแบบเชื้อราบริสุทธิ์บนอาหาร agar slant โดยศูนย์วิจัยข้าวปรางจินบุรีเป็นผู้ตรวจวินิจฉัยเชื้อราและยืนยันแล้ว นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการของสาขาวิชาเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดสระแก้ว โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเชื้อราสร้างโคโลนี จากนั้นใช้ท่อนสแตนเลส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5 มิลลิเมตร เจาะบริเวณปลายของโคโลนีเชื้อราให้ได้เป็นชิ้นวุ้นทรงกลมนำไปวางบนอาหาร PDA บริเวณกึ่งกลางของจานเพาะเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน ตามวิธีของ Pradeep, Begam, Palaniswamy, & Pradeep (2013) เพื่อใช้สำหรับการทดสอบสูตรอาหารต่อไป

3. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ประกอบด้วยอาหาร 5 สูตร ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 15 จานอาหารเลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 สูตร มีดังต่อไปนี้

สูตรที่ 1 สูตรอาหาร PDA

สูตรที่ 2 สูตรอาหาร RSA

สูตรที่ 3 สูตรอาหาร RHA

สูตรที่ 4 สูตรอาหาร RBA

สูตรที่ 5 สูตรอาหาร WA

4. การทดสอบการเจริญของเชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* ในสูตรอาหารรำข้าว ฟางข้าว และแกลบ ประยุกต์จากวิธีของ Sharma, & Pandey (2010)

นำเชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* ที่เตรียมไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใช้ท่อนสแตนเลสเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5 มิลลิเมตร เจาะบริเวณ

ปลายโคโลนี ให้เติมเชื้อและตั้งขึ้นวันนำมาวางกึ่งกลางบนสูตรอาหาร PDA, WA, RBA, RSA และ RHA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 วัน หลังจากนั้นวัดการเจริญของเชื้อราในสูตรอาหารต่าง ๆ ดังนี้ วัดความยาวของโคโลนีเชื้อราโดยใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (Metrology รุ่น VC-9300 ประเทศไต้หวัน) วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* จนกระทั่งโคโลนีเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา หลังจากโคโลนีเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา ทำการเตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ล้างสปอร์ด้วย tween-80 (Loba Chemie ประเทศอินเดีย) ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วใช้ไมโครปิเปตต์ดูดผิวหน้าให้สปอร์แขวนลอยในน้ำ นำไปใส่ในหลอดทดลอง กรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร (HYSC รุ่น OS-300) เพื่อให้สปอร์ของเชื้อราแขวนลอยในน้ำ นำสารแขวนลอยสปอร์

ที่ได้ไปตรวจนับ ปรับระดับความเข้มข้นให้ได้ 1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ด้วย tween-80 ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ นำมาคำนวณความเข้มข้นของเชื้อรา โดยดูสารแขวนลอยสปอร์จาก stock ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่บรรจุ tween-80 ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาตร 900 ไมโครลิตร (หลอดที่ 1 เจือจาง 10 เท่า) จากนั้นดูสารแขวนลอยสปอร์จากหลอดที่ 1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่บรรจุ tween-80 ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาตร 900 ไมโครลิตร (หลอดที่ 2 เจือจาง 100 เท่า) จากนั้นนำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราเจือจาง 100 เท่า ไปนับจำนวนสปอร์ โดยดูสารแขวนลอยสปอร์หยดลง haemocytometer (Boeco รุ่น BOE-14V ประเทศเยอรมัน) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Nikon รุ่น ECLIPSE E200) กำลังขยาย 40x นับตรงกลางทั้ง 2 ด้าน (A และ B) นับจำนวน 5 ช่อง แต่ละช่องมี 16 ช่องเล็ก นำมาหาค่าเฉลี่ย และคำนวณโดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นของเชื้อรา (สปอร์ต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของสปอร์ที่นับได้} \times \text{ค่าคงที่ } (2.50 \times 10^5) \times \text{ค่าระดับความเจือจางของสปอร์ที่ตรวจนับ}}{\text{ค่าเฉลี่ยของสปอร์ที่นับได้} \times \text{ค่าคงที่ } (2.50 \times 10^5) \times \text{ค่าระดับความเจือจางของสปอร์ที่ตรวจนับ}}$$

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลหาความแปรปรวนด้วยวิธี one-way ANOVA เพื่อเปรียบเทียบค่าแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี (homogeneity of variance test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$) ด้วยโปรแกรม IBM SPSS statistics 26

ผลการศึกษา

1. การเจริญของโคโลนีและจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *F. fujikuroi* บนสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อรา

การศึกษาการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *F. fujikuroi* ในสูตรอาหาร RBA, RSA, และ RHA โดยเปรียบเทียบกับสูตรอาหาร PDA และสูตรอาหาร WA พบว่าลักษณะ

โคโลนีของเชื้อรา *F. fujikuroi* บนสูตรอาหาร PDA, RSA และ RHA โคโลนีมีสีขาวอมชมพู เส้นใยหนาและฟูจากผิวหน้าอาหาร ในสูตรอาหาร RBA ลักษณะโคโลนีจะมีสีขาวหรือขาวอมเหลืองเล็กน้อย เส้นใยหนาและฟูบนผิวหน้าอาหาร แต่ในสูตรอาหาร WA ลักษณะของโคโลนีสีขาว เส้นใยบาง เจริญขึ้น การเจริญของโคโลนีบนสูตรอาหาร PDA เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร RBA, RSA, RHA และ WA พบว่าโคโลนีของเชื้อรา *F. fujikuroi* เจริญได้ดีที่สุดในสูตรอาหาร PDA ใช้ระยะเวลาเจริญจนกระทั่งเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 8 วัน และรองลงมาได้แก่สูตรอาหาร RSA, RBA และ RHA ใช้ระยะเวลาจนกระทั่งเชื้อเจริญเต็มจานอาหาร 9 วัน สำหรับสูตรอาหาร WA การเจริญของโคโลนีใช้เวลานานสุดที่ 12 วัน เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติแล้วมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดัง (Figure 1)

ความยาวโคโลนีของเชื้อรา *F. fujikuroi* ที่เจริญบนสูตรอาหาร PDA, RBA, RHA, RSA และ WA หลังจากวางชิ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 วัน จากนั้นวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทุก ๆ 24 ชั่วโมง จนกระทั่งโคโลนีของเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลการทดลองพบว่าความยาวโคโลนีของเชื้อราในวันที่ 4 บนสูตรอาหาร PDA, RBA และ RHA มีความยาวโคโลนีของเชื้อรามากที่สุดเฉลี่ย 32.75, 32.75 และ 30.90 มิลลิเมตร ตามลำดับ วันที่ 5 สูตรอาหาร PDA และ RSA มีความยาวโคโลนีของเชื้อรามากที่สุดเฉลี่ย 43.10 และ 41.75 มิลลิเมตร วันที่ 6 สูตรอาหาร PDA

และ RSA มีความยาวโคโลนีของเชื้อรามากที่สุดเฉลี่ย 52.20 และ 51.60 มิลลิเมตร, วันที่ 7 สูตรอาหาร PDA และ RSA มีความยาวโคโลนีของเชื้อรามากที่สุดเฉลี่ย 62.90 และ 61.00 มิลลิเมตร วันที่ 8 สูตรอาหาร PDA และ RSA มีความยาวโคโลนีของเชื้อรามากที่สุดเฉลี่ย 72.55 และ 74.75 มิลลิเมตร และวันที่ 9 สูตรอาหาร PDA มีความยาวโคโลนีของเชื้อรามากที่สุดเฉลี่ย 85 มิลลิเมตร รองลงมาได้แก่ สูตรอาหาร RSA, RBA, RHA และ WA มีความยาวโคโลนีของเชื้อราเฉลี่ย 80.55, 79.65, 77.70 และ 59.65 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเมื่อนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *F. fujikuroi* หลังจากเชื้อราเจริญเต็มบนสูตรอาหาร พบว่าจำนวนสปอร์ของเชื้อราในสูตรอาหาร PDA, RBA, RHA, RSA และ WA มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.70×10^7 , 1.40×10^8 , 6.40×10^6 , 8.30×10^6 และ 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดัง (Table 2)

2. การเจริญของโคโลนีและจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *F. oxysporum* บนสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* ในสูตรอาหาร RBA, RSA, และ RHA เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร PDA และ WA พบว่าลักษณะของโคโลนีของเชื้อรา *F. oxysporum* มีสีขาวหรือสีขาวอมเหลือง เส้นใยฟูและหนา และการเจริญบนสูตรอาหารจนกระทั่งเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเร็วที่สุดใช้ระยะเวลา 4 วัน บนสูตรอาหาร PDA และ 5 วัน บนสูตรอาหาร RSA, RBA และ RHA ในส่วนของสูตรอาหาร WA ใช้ระยะเวลา 7 วัน จนกระทั่งเชื้อเจริญเต็มบนอาหาร แต่ลักษณะของเส้นใยบาง ไม่ฟูบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ดัง (Figure 2)

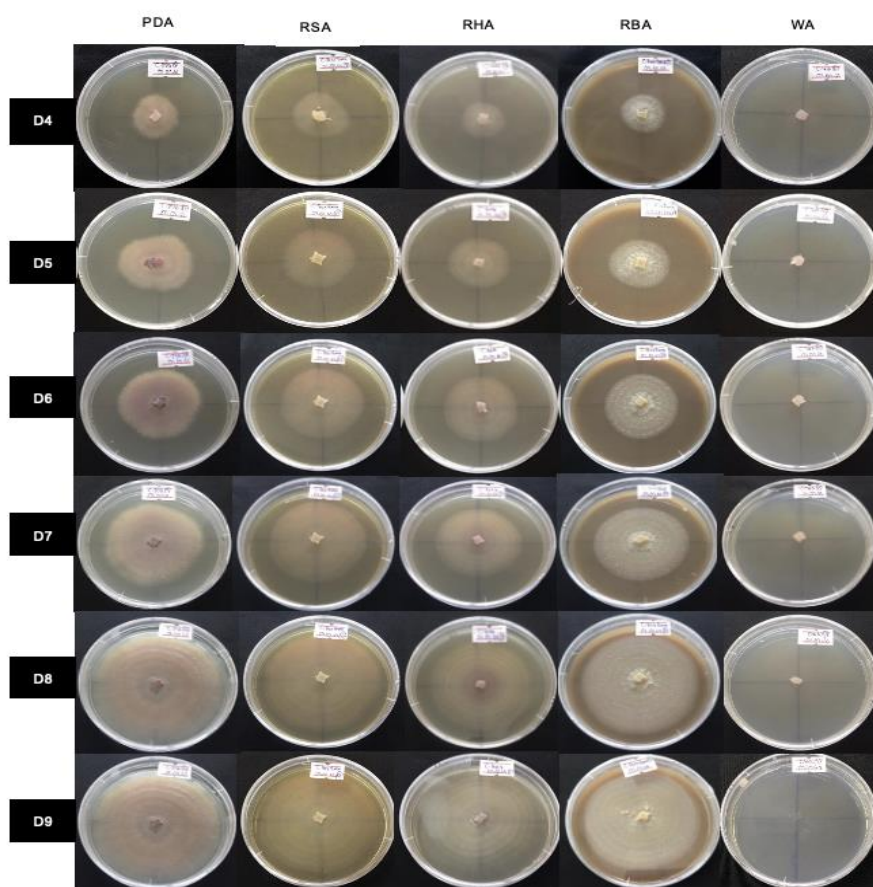


Figure 1 Mycelium growth of *F. fujikuroi* on culture media: potato dextrose agar (PDA), rice straw agar (RSA), rice husk agar (RHA), rice bran agar (RBA) and water agar (WA).

Table 2 Mycelium length and spore counts of *F. fujikuroi* in PDA, RBA, RHA, RSA and WA.

culture media	average length of <i>F. fujikuroi</i> (mm.)						spore counts (spores/ml)
	day 4	day 5	day 6	day 7	day 8	day 9	
PDA ^{1/}	32.75 ^a	43.10 ^a	52.20 ^a	62.90 ^a	72.55 ^a	85.00 ^a	5.70×10 ^{7b}
RSA ^{1/}	27.50 ^b	41.75 ^a	51.60 ^a	61.00 ^a	74.75 ^a	80.55 ^b	8.30×10 ^{6c}
RHA ^{1/}	30.90 ^a	38.05 ^b	46.60 ^b	55.35 ^b	65.05 ^b	77.70 ^c	6.40×10 ^{6c}
RBA ^{1/}	32.75 ^a	36.10 ^b	47.15 ^b	56.20 ^b	65.30 ^b	79.65 ^{bc}	1.40×10 ^{8a}
WA ^{1/}	23.45 ^c	30.25 ^c	37.15 ^c	46.25 ^c	53.30 ^c	59.65 ^d	1.00×10 ^{5c}
%CV	6.91	5.28	5.77	4.87	4.42	3.05	28.32
p-value	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

^{1/}PDA=potato dextrose agar, RSA=rice straw agar, RHA=rice husk agar, RBA=rice bran agar, WA=water agar.

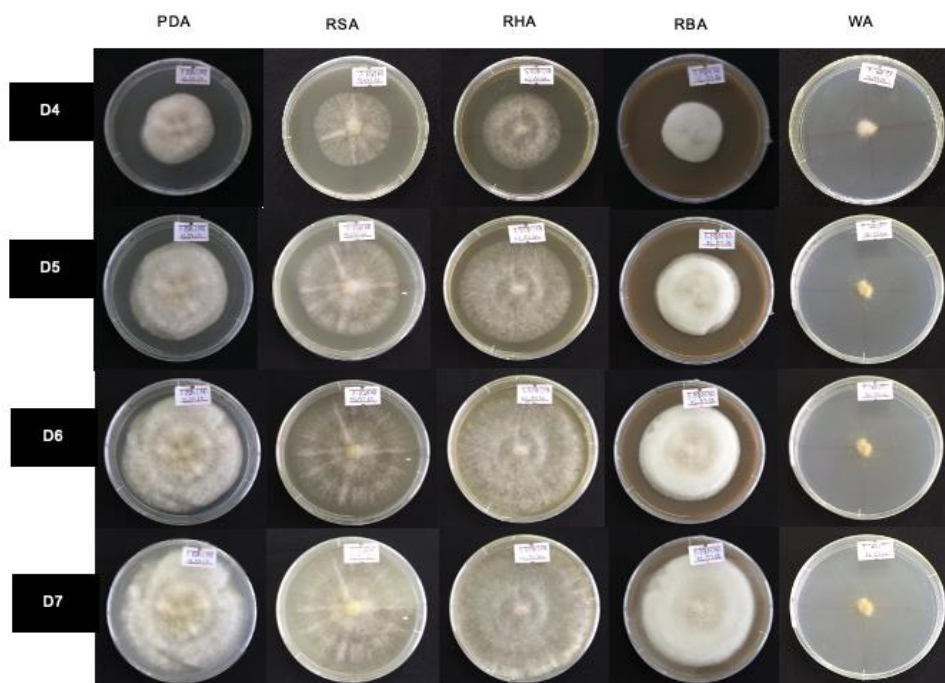


Figure 2 Mycelium growth of *F. oxysporum* on culture media: potato dextrose agar (PDA), rice straw agar (RSA), rice husk agar (RHA), rice bran agar (RBA) and water agar (WA).

ความยาวโคโลนีของเชื้อรา *F. oxysporum* ที่เจริญบนสูตรอาหาร PDA, RBA, RHA, RSA และ WA วัดความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราหลังจากการเพาะเลี้ยง 3 วัน พบว่าความยาวโคโลนีของเชื้อราในวันที่ 4, 5, 6 และ 7 บนสูตรอาหาร RHA มีความยาวมากที่สุดเฉลี่ย 49.80, 65.50, 78.50 และ 85 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความ

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *F. oxysporum* โดยนับจำนวนสปอร์หลังจากเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าจำนวนสปอร์ของเชื้อราบนสูตรอาหาร RBA มีจำนวนสปอร์มากที่สุดเฉลี่ย 6.30×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ดัง (Table 3)

Table 3 Mycelium length and spore counts of *F. oxysporum* in PDA, RBA, RHA, RSA and WA.

culture media	average length of <i>F. oxysporum</i> (mm.)				spore counts (spores/ml)
	day 4	day 5	day 6	day 7	
PDA ^{1/}	48.25 ^a	64.05 ^a	76.25 ^{ab}	85.00 ^a	3.50×10^{6b}
RSA ^{1/}	45.05 ^b	61.65 ^b	75.45 ^b	85.00 ^a	6.00×10^{5c}
RHA ^{1/}	49.80 ^a	65.50 ^a	78.50 ^a	85.00 ^a	4.00×10^{5c}

Table 3 Mycelium length and spore counts of *F. oxysporum* in PDA, RBA, RHA, RSA and WA. (continue).

culture media	average length of <i>F. oxysporum</i> (mm.)				spore counts (spores/ml)
	day 4	day 5	day 6	day 7	
RBA ^{1/}	39.95 ^c	50.80 ^d	62.80 ^c	74.90 ^b	6.30×10 ^{6a}
WA ^{1/}	40.15 ^c	53.00 ^c	63.65 ^c	73.05 ^c	0.00×10 ^{5c}
%CV	4.90	3.09	3.20	3.34	42.01
p-value	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

^{1/} PDA=potato dextrose agar, RSA=rice straw agar, RHA=rice husk agar, RBA=rice bran agar, WA=water agar.

อภิปรายผล

การศึกษาการเจริญของเชื้อรา *F. fujikuroi* บนสูตรอาหาร PDA, RBA, RHA, RSA และ WA เมื่อวัดการเจริญหลังจากเพาะเลี้ยง 3 วัน โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราทุก ๆ 24 ชั่วโมง จนกระทั่งโคโลนีของเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ พบว่าเชื้อราที่เจริญบนอาหาร RSA และ RHA สามารถสร้างเส้นใยและเจริญอย่างรวดเร็ว โดยลักษณะของเส้นใยจะมีสีขาวอมชมพู เช่นเดียวกับเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน ในขณะที่เชื้อราที่เจริญบนอาหาร RBA ลักษณะของเส้นใยจะเป็นสีขาวหรือขาวอมเหลือง และที่น่าสนใจคือสามารถสร้างสปอร์ได้มากกว่าสูตรอาหารอื่น รวมทั้งเชื้อราที่เจริญบนอาหาร WA จะสร้างเส้นใยเป็นสีขาว ลักษณะเส้นใยบาง สอดคล้องกับ Hangtrakul, Sommartya, Soyong, & Poeaim (2008) ได้ศึกษาวิจัยการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Beauveria* sp. ในเมล็ดธัญพืช 5 ชนิด คือ ข้าวสาลี (เมล็ดเต็ม) ข้าวสาลี (เมล็ดหัก) ข้าวโพด (เมล็ดเต็ม) ข้าวโพด (เมล็ดหัก) และข้าวฟ่าง พบว่าลักษณะเส้นใยมีสีขาวฟู สปอร์เป็นผงสีขาวหรือสีขาวอมเหลือง ลักษณะและการเจริญของโคโลนีเชื้อรานี้จะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร อายุ

ของเชื้อ และสภาวะแวดล้อม ซึ่งมีผลต่อความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี และลักษณะเส้นใยของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากสารอาหารที่พบในธรรมชาติของฟางข้าว รำข้าว และเกลบมีปริมาณสารอาหารแตกต่างกัน มีรายงานว่าฟางข้าว รำข้าว และเกลบมีส่วนประกอบของสารลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลสสูงอาจใช้เป็นแหล่งอาหารในการเจริญของเชื้อราได้ (Ruttanasutja & Thongdee, 2020) ปริมาณสารอาหารหลักของรำข้าวประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลส 27 เปอร์เซ็นต์ เซลลูโลส 39 เปอร์เซ็นต์ ลิกนิน 12 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 11 เปอร์เซ็นต์ (Rambey, Simbolon, & Siregar, 2020) และในรำข้าวยังมีส่วนประกอบของโปรตีน 14.30 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรต 33.70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการที่มีคุณภาพดี (Pajareon, 2019) และรวมทั้งผนังเซลล์ของเกลบดิบมีปริมาณเซลลูโลสประมาณ 25-35 เปอร์เซ็นต์ (Wang, Li, Barford, Hellgradt, & McKay, 2018) สอดคล้องกับผลการทดลองการเจริญของเชื้อรา *F. fujikuroi* บนสูตรอาหาร PDA และ RBA เส้นใยเจริญได้ดีไม่แตกต่างกัน เนื่องจากมีปริมาณสารอาหารที่ใกล้เคียงกัน นอกจากนี้มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เกลบดิบเป็นวัตถุดิบในการเพาะเลี้ยงเชื้อราสายพันธุ์

Aspergillus flavus CICC40258 โดยใช้วิธีการแยกทางชีวภาพเพื่อสกัดเซลล์จากแกลบดิบ พบว่าปริมาณความเข้มข้นเซลล์สูงถึง 55 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการสกัด นอกจากนี้ในฟางข้าว รำข้าว และแกลบดิบยังมีปริมาณสารอาหารในรูปแบบของคาร์โบไฮเดรตเหมาะสำหรับการเจริญของเชื้อรา ในการผลิตเห็ดนางรมขาวอีกด้วย ฟางข้าว รำข้าว และแกลบยังมีประโยชน์สามารถนำมาใช้ในการเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ หรือนำมาใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ด ยังมีการนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงไรแดง *Moina macrocopa* (Ullimaz, Nindarwi, & Mubarak, 2020)

จากการศึกษาของ Elamawi, Tahoon, Elsharnoby, & El-Shafey (2020) พบว่าซิลิกาจากแกลบดิบมีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืชและผลผลิตโดยสามารถเพิ่มความต้านทานของพืชต่อความเครียดที่เกิดจากสิ่งมีชีวิต และความเครียดทางชีวภาพ ซึ่งซิลิกามีบทบาทในการสร้างความต้านทานต่อการเกิดโรคยอดผักดาบ (bakanae disease) ของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *F. fujikuroi* จึงเป็นไปได้ว่าในการทดลองครั้งนี้ที่ใช้แกลบเป็นวัตถุดิบในสูตรอาหาร RHA การเจริญของโคโคนี และจำนวนสปอร์ของเชื้อ *F. fujikuroi* จะน้อยกว่าในสูตรอาหารรำข้าว ฟางข้าว และอาหาร PDA เนื่องจากในแกลบมีสารซิลิกาที่ช่วยลดอัตราการเกิดโรคยอดผักดาบได้ รวมไปถึงการศึกษาของ Adesemoye, & Adedire (2005) ใช้ข้าวโพด ข้าวฟ่างทดแทนมันฝรั่งในสูตรอาหาร PDA ในการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus niger*, *F. moniliforme*, *Penicillium* sp., *Cercospora* sp., *Curvularia palescens*, *Botryodiplodia* sp., *Rhizopus* sp. และ *Rhodotorula rubra* พบว่าสูตรอาหารข้าวฟ่างช่วยส่งเสริมการเจริญ

ของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา *F. moniliforme* ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เนื่องจากในข้าวฟ่างมีโปรตีน 19.13 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยผนังเซลล์ (neutral detergent fiber) 9.36 เปอร์เซ็นต์ และเยื่อใยลิกโนเซลลูโลส (acid detergent fiber) 66.41 เปอร์เซ็นต์ (Khejomsart, & Juntanam, 2016) และการศึกษาของ Punyapapap, & Punyapapap (2017) ใช้ถั่วเหลืองทดแทนมันฝรั่งในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจากถั่วเหลืองทำให้เชื้อรา *Penicillium* sp. เจริญได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ Wet-o-sot (2020) ใช้มันเทศ ถั่วเขียว และข้าวโพดฝักอ่อน ทดแทนมันฝรั่งในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อประสิทธิภาพของการพัฒนาเส้นใยเห็ดนางรม และหลินจือ พบว่าเส้นใยของเชื้อเห็ดสามารถเจริญได้ดี ในสูตรอาหารถั่วเขียว และข้าวโพดฝักอ่อน ซึ่งการเจริญของเส้นใยแต่ละชนิดของเห็ดไม่มีความแตกต่างกัน และสูตรอาหารถั่วเขียวตอบสนองต่อการเดินของเส้นใยของเห็ดทั้ง 3 ชนิดได้ดี ในสูตรอาหาร PDA และสูตรอาหารถั่วเขียวส่งผลทำให้เส้นใยของเชื้อเห็ดมีความหนาสูงกว่าสูตรอาหารอื่น ๆ Thuankul (2019) ใช้ผลของพืช ได้แก่ จันอิน ตะขบฝรั่ง ตะขบป่า มะกอกน้ำ มะขามป้อม มะรุม มะเดื่อ และยอ้าน ในการใช้ทดแทนมันฝรั่งในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR3090, *Pyricularia grisea* PG002-12 และ *Rhizopus oligosporus* พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจากมะเดื่อสามารถใช้ทดแทนสูตรอาหาร PDA ในการเพาะเลี้ยง *R. oligosporus* ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาได้ และยังช่วยส่งเสริมให้เส้นใยของเชื้อราที่มีสีขาวไปจนถึงสีเทาอ่อน บริเวณขอบของโคโคนีมีสีขาว เส้นใยราฟู

สร้างสปอร์สีดำเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการใช้วัตถุดิบต่าง ๆ ที่มีในท้องถิ่นมาสามารถนำมาใช้ทดแทนมันฝรั่งในสูตรอาหาร PDA ในการเลี้ยงเชื้อราได้ขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหาร และความต้องการใช้สารอาหารที่มีในวัตถุดิบในแต่ละชนิดของเชื้อรา

สรุป

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* ในสูตรอาหารที่ทำจากรำข้าว ฟางข้าว และแกลบ ทดแทนมันฝรั่งในสูตรอาหาร PDA พบว่าสูตรอาหารฟางข้าวมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเชื้อ *F. fujikuroi* ได้ดีเทียบเท่าสูตรอาหาร PDA และสูตรอาหารแกลบมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเชื้อ *F. oxysporum* ได้ดีเทียบเท่าสูตรอาหาร PDA ในส่วนของจำนวนสปอร์ของเชื้อรา พบว่าสูตรอาหารรำข้าวมีผลช่วยส่งเสริมให้จำนวนสปอร์มากที่สุดที่เชื้อราทั้ง 2 ชนิด ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้ประโยชน์จากรำข้าว ฟางข้าว และแกลบ มาใช้ทำอาหารเลี้ยงเชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* ทดแทนมันฝรั่งในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในห้องปฏิบัติการได้ ถือเป็นการใช้ผลพลอยได้จากข้าวให้เป็นประโยชน์ในการลดค่าใช้จ่ายในการทำอาหารเลี้ยงเชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* และช่วยลดวัสดุธรรมชาติที่เป็นเศษเหลือในการเกษตรในรูปแบบ zero waste อีกด้วย

สำหรับข้อเสนอแนะเพิ่มเติม งานวิจัยนี้ควรทำการศึกษาสูตรอาหารที่ทำจากรำข้าว ฟางข้าว และแกลบกับเชื้อราชนิดอื่น ๆ และเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *F. fujikuroi* และ *F. oxysporum* บนสูตร

อาหาร PDA ร่วมกับสูตรอาหารที่ทำจากรำข้าว ฟางข้าว และแกลบ

เอกสารอ้างอิง

- Adesemoye, A. O., & Adedire, C. O. (2005). Use of cereals as basal medium for the formulation of alternative culture media for fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(3), 329-336.
- Desjardins, A. E., Manandhar, H. K., Plattner, R. D., Manandhar, G. G., Poling S. M., & Maragos, C. M. (2000). *Fusarium* species from Nepalese rice and production of mycotoxins and gibberellic acid by selected species. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(3), 1020-1025.
- Elamawi, R. M., Tahoon, A. M., Elsharnoby, D. E., & El-Shafey, R. A. (2020). Bio-production of silica nanoparticles from rice husk and their impact on rice bakanae disease and grain yield. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53(9-10), 459-478.
- Gupta, A. K., Solanki, I. S., Bashyal, B. M., Singh, Y., & Srivastava, K. (2015). Bakanae of rice-an emerging disease in Asia. *The Journal Animal & Plant Sciences*, 25(6), 1499-1514.
- Hangtrakul, S., Sommartya, P., Soyong, K., & Poeaim, S. (2008). Diversity analysis of entomopathogenic fungi, *Beauveria* sp. by restriction fragment length polymorphism of the ITS regions. In *Proceeding of 46th Kasetsart University Annual Conference, Subject Science* (pp. 594-602). Bangkok: Kasetsart University. (in Thai)
- Khejornsart, P., & Juntanam, T. (2016). Effects of forage sorghum silage and Napier silage on production

- performance in meat goat. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 44(Suppl.1), 517-522. (in Thai)
- Liu, Y., Zhang, H., Yi, C., Quan, K., & Lin, B. (2021). Chemical composition, structure, physicochemical and functional properties of rice bran dietary fiber modified by cellulase treatment. *Food Chemistry*, 342, 128352.
- Maneenil, N., & Pengnoo, A. (2022). Effect of rice bran and broken rice on the efficacy of *Bacillus subtilis* antagonist bacteria in controlling *Rigidoporus microporus*, the causing white root rot disease on para rubber. *Songklanakarin Journal of Plant Science*, 9(2), 51-58. (in Thai)
- Nonaka, K., Todaka, N., Omura, S., & Masuma, R. (2014). Combination cellulose plate (non-agar solid support) and agar plate method improves isolation of fungi from soil. *The Journal of Antibiotics*, 67, 755-761.
- Pajareon, S. (2019). Stability of anthocyanin extract from rice berry rice bran encapsulated with rice bran protein concentrate under different pH and heating conditions. *RMUTSB Academic Journal*, 7(2), 205-215. (in Thai)
- Pradeep, F. S., Begam, M. S., Palaniswamy, M., & Pradeep, B. V. (2013). Influence of culture media on growth and pigment production by *Fusarium moniliforme* KUMBF1201 isolated from paddy field soil. *World Applied Sciences Journal*, 22(1), 70-77.
- Punyaupapat, P., & Punyaupapat, S. (2017). Study of soybean extracted media formulation for the growth of *Lentinus polychrous* and *Lentinus squarrosulus* mushroom. In L. Patcharasak (Ed.), *Proceedings of the 9th NPRU National Academic Conference Achieving Thailand 4.0 through Research Development in Higher Education* (pp. 2-9). Nakhon Pathom: Rajabhat University Nakhon Pathom. (in Thai)
- Rambey, R., Simbolon, F. M., & Siregar, E. B. M. (2020). Growth and productivity of oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) on media rice straw mixed with sawdust. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 454, 012082.
- Ruttanasutja, P., & Thongdee, U. (2020). The isolation of cellulase producing bacteria from paddy field soil samples in Phra Nakhon Si Ayutthaya province. *RMUTSB Academic Journal*, 8(2), 165-175. (in Thai)
- Samerpitak, K., Kongthaworn, A., Trakarathai, K., & Chaicumpar, K. (2007). Development of fungal media for using in laboratory learning. *Srinagarind Medical Journal*, 22(4), 394-400. (in Thai)
- Sharma, G., & Pandey, R. R. (2010). Influence of culture media on growth colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 1(8), 157-164.
- Thuankul, N. (2019). Using of some fruits as substitute of potato in potato dextrose agar media. *PSRU Journal of Science and Technology*, 4(3), 27-36. (in Thai)
- Ullimaz, A., Nindarwi, D. D., & Mubarak, A. S. (2020). Different concentration of rice bran suspension on fecundity and offspring production of each *Moina macrocopa* broodstock. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, 441, 012096.
- Uthayasooryan, M., Pathmanathan, S., Ravimannan, N., & Sathyaruban, S. (2016). Formulation of alternative culture media for bacterial and fungal growth. *Der Pharmacia Lettre*, 8(1), 431-436.
- Wang, Z., Li, J., Barford, J. P., Hellgradt, K., & McKay, G. (2016). A comparison of chemical treatment methods

for the preparation of rice husk cellulosic fibers.

International Journal of Environmental & Agriculture Research, 2(1), 67-77.

Wet-o-sot, S. (2020). Efficiency of some mushroom mycelium development from use sweet potato, saba banana and baby corn to substitute potato in culture media. *YRU Journal of Science and Technology*, 5(2), 85-94. (in Thai)

Wongcharoen, A. (2014). Screening of endophytic fungi from rice (*Oryza sativa* L.) against rice pathogenic fungi. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 42(3), 385-396. (in Thai)